

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Asam urat termasuk salah satu penyakit kronis yang paling sering diderita oleh masyarakat (Diantri dan Chandra, 2013). Asam urat merupakan produk akhir dari metabolisme purin. Asam urat dapat diproduksi sendiri oleh tubuh (asam urat endogen) yaitu sekitar 80-85%, sedangkan sisanya berasal dari makanan (asam urat eksogen). Kadar asam urat normal wanita dewasa adalah 2,4-5,7 mg/dL; pria dewasa adalah 3,4-7,0 mg/dL; dan anak-anak adalah 2,8-4,0 mg/dL. Dalam tubuh, sebagian besar asam urat berasal dari metabolisme nukleotida purin endogen, guanosin monofosfat (GMP), inosin monofosfat (IMP) dan adenosin monofosfat (AMP), melalui proses perubahan *intermediate hypoxanthine* dan guanin menjadi xantin yang dikatalis oleh enzim xantin oksidase dengan produk akhir berupa asam urat (Lingga, 2012), kemudian asam urat akan dibawa oleh darah untuk dikeluarkan melalui organ ginjal bersama dengan air seni.

Ginjal merupakan organ yang berperan dalam mengatur kadar asam urat dalam darah agar tetap normal. Akan tetapi, asam urat berlebih yang tidak dapat tertampung dan termetabolisme seluruhnya oleh tubuh akan menyebabkan peningkatan kadar asam urat di dalam darah. Akibatnya, produksi asam urat menjadi berlebih sedangkan, pembuangannya berkurang. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya hiperurisemia (Katzung, Masters and Trevor, 2012).

Menurut Putra (2009), hiperurisemia adalah keadaan dimana kadar asam urat dalam darah meningkat lebih dari kadar normal. Hiperurisemia sendiri dapat disebabkan oleh berbagai hal seperti, peningkatan

metabolisme asam urat (*over production*), penurunan pengeluaran asam urat urin (*under excretion*), atau gabungan dari keduanya. Hiperurisemia dapat berkembang menjadi gout, yaitu penyakit yang ditandai dengan pengendapan monosodium urat (MSU) pada bagian sendi dan jaringan tertentu. Pengendapan MSU mengakibatkan peradangan yang pertama kali terjadi pada sendi-sendi tertentu di kaki dan tangan. Penyakit inilah yang disebut radang sendi (*arthritis gout*) (Lingga, 2012). Penanda awal gout dapat dilihat dari kadar asam urat yang tinggi meskipun untuk mencapai manifestasi gout diperlukan waktu yang cukup lama. Hiperurisemia belum tentu mengalami gout, tetapi gout sudah pasti ditandai dengan gejala hiperurisemia (Lingga, 2012).

Faktor-faktor yang menyebabkan seseorang terserang penyakit asam urat adalah usia, konsumsi alkohol berlebih, kegemukan, hipertensi, penyakit jantung, obat-obatan tertentu (terutama diuretika) dan gangguan fungsi ginjal. Adanya asupan senyawa purin berlebih juga sangat berpengaruh seperti daging, jeroan, kepiting, keju, kacang tanah, bayam, melinjo, sarden, santan, buncis dan gorengan (Misnadiarly, 2008). Tetapi, untuk meringankan serangan gout akut dan mencegah masa gout berulang serta batu urat pada penderita gout, maka pengobatan yang dapat dilakukan adalah dengan menurunkan kadar asam urat yang melebihi batas normal (Katzung, 1998).

Allopurinol adalah obat sintetik yang biasa digunakan untuk mengatasi asam urat. Allopurinol sendiri merupakan suatu analog asam urat, yang bekerja menghambat pembentukan asam urat dari prekursornya (xantin dan hipoxantin) yaitu dengan menghambat aktivitas enzim xantin oksidase (Price dan Wilson, 2005). Haryanto (2015) dalam penelitiannya mengenai inhibitor xantin oksidase menggunakan ekstrak etanol daun pacar

kuku yang berpotensi sebagai inhibitor terhadap aktivitas enzim xantin oksidase diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar  $24,42 \pm 5,10 \mu\text{g/mL}$  dan hasil  $IC_{50}$  dari allopurinol sebagai pembanding sebesar  $0,62 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$ . Namun, penggunaan allopurinol dalam jangka waktu yang lama memiliki beberapa efek samping antara lain kemerahan pada kulit, leukopenia, kadang-kadang terjadi toksisitas pada gastrointestinal dan meningkatkan serangan akut gout pada awal terapi (Dipiro *et al.*, 2005). Hal ini yang membuat masyarakat dan para ahli kesehatan, melihat adanya alternatif lain yang lebih aman dengan harga terjangkau. Salah satunya adalah penggunaan obat tradisional.

Penggunaan obat tradisional sendiri di Indonesia, pada hakekatnya merupakan bagian dari kebudayaan bangsa Indonesia. Efek samping yang relatif kecil merupakan salah satu keuntungan dari penggunaan obat tradisional dibandingkan dengan obat *modern* atau sintetik (Wijayakusuma, 1996). Pengobatan tradisional atau obat yang berbahan baku tanaman obat, juga bermanfaat untuk mengontrol kadar asam urat dalam darah. Saat ini, antusias masyarakat dalam penggunaan tanaman obat sebagai alternatif semakin meningkat, sehingga diperlukan penelitian agar penggunaannya sesuai dengan kaidah pelayanan kesehatan dan dapat dipertanggungjawabkan khasiat, keamanan serta standar kualitasnya (Dirjen POM, 2000).

Tanaman obat yang dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati asam urat, salah satunya adalah tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang dikenal sebagai daun inai atau *henna*. Tanaman pacar kuku umumnya di masyarakat, digunakan sebagai pewarna merah baik pada kuku, rambut, jari serta tangan untuk memperindah penampilan dan juga dipakai dalam industri tekstil (Utami, 2008; Adalina, Luciasih dan Andi, 2010), zat warnatersebut merupakan *2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone* (HNQ;

Lawsonia) adalah pewarna alami dan terkandung 1,0-1,4% dalam daun *henna* (Borade, Kale dan Shete, 2011).

Beberapa pengujian secara farmakologi membuktikan bahwa tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) memiliki khasiat sebagai analgesik, hipoglikemi, hepatoprotektor, imunostimulan, antiinflamasi, antibakteri, antimikroba, antifungi, antivirus, antiparasit, antitripanosoma, antidermatopita, antioksidan, antifertilitas, antituberkulosa dan antikanker (Chaudhary, Goyal and Poonia, 2010).

Pada pengujian yang dilakukan secara *in vivo* mengenai efektivitas dari tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) sebagai obat luka alternatif yang diujikan pada 24 ekor tikus jantan dan dilakukan pengamatan selama 12 hari. Hasil yang diperoleh yaitu penyembuhan luka paling cepat didapat dari ekstrak air daun pacar kuku dengan konsentrasi 15% (Elya, Ibrahim dan Khadijah, 2007).

Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan oleh Raja and Dubay (2013), terhadap ekstrak daun pacar kuku, ditemukan kandungan senyawa glikosida, fitosterol, steroid, tanin, dan flavonoid. Jenis golongan senyawa flavonoid yang terdapat dalam tanaman pacar kuku antara lain *apigenin-7-glucoside*, *apigenin-4-glycoside*, *luteolin-7-glucoside*, *luteolin-3-glucoside* (Singh, Kaur, Dangi and Singh, 2014). Perlu diketahui juga bahwa bunga dari tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) mengandung minyak atsiri yang berbau seperti trimetil amina dan umum digunakan dalam kosmetika (Shadily, 1984).

Adapun dalam penelitian yang dilakukan Haryanto (2015) dengan menggunakan ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) sebagai inhibitor terhadap aktivitas enzim xantin oksidase secara *in vitro*, ditemukan adanya senyawa flavonoid pada hasil pengujian dengan

menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Hal ini, dbuktikan dengan adanya noda warna kuning setelah digunakan penampak bercak  $\text{AlCl}_3$ .

Lin, *et al* (2002) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa senyawa flavonoid dapat menghambat kerja dari enzim xantin oksidase. Senyawa luteolin, quercetin, myricetin dan apigenin dari ekstrak tumbuhan dikatakan berfungsi sebagai inhibitor xantin oksidase. Daya hambat flavonoid terhadap aktivitas enzim xantin oksidase terjadi melalui interaksi dengan gugus samping enzim dan mekanisme inhibisi kompetitif. Pada penelitian yang dilakukan oleh Nagao, Seki dan Kobayashi (1999) juga menyatakan bahwa metabolit sekunder aktif yang dapat berperan sebagai inhibitor xantin oksidase adalah flavonoid. Pada penelitian tersebut Luteolin (flavon) dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 0,96  $\mu\text{M}$ , Quercetin (flavonol) dan Myricetin (flavonol) memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 0,44  $\mu\text{M}$  dan 1,27  $\mu\text{M}$ . Pada penelitian lainnya, dikatakan juga bahwa Apigenin (flavon) dapat menghambat aktivitas enzim xantin oksidase dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 0,44  $\mu\text{M}$  (Huo, Li-Na *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian Haryanto (2015), ekstrak etanol daun pacar kuku memiliki potensi sebagai inhibitor terhadap enzim xantin oksidase, maka pada penelitian ini fraksi dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang diperoleh dengan metode fraksinasi akan diteliti lebih lanjut potensinya sebagai inhibitor terhadap enzim xantin oksidase.

Metode fraksinasi sendiri merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair, yang dilakukan secara bertingkat berdasarkan kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut

kedalam pelarut polar (Harborne, 1987). Tujuan dilakukannya fraksinasi adalah untuk mengetahui adanya golongan metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai inhibitor terhadap enzim xantin oksidase, dengan menggunakan metode pemisahan yaitu kromatografi kolom.

Kromatografi kolom merupakan kromatografi yang menggunakan kolom sebagai alat untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran, komponen-komponen tersebut akan diabsorpsi oleh pita sempit pada permukaan atas kolom. Mekanisme kerja dari kromatografi kolom yaitu, dengan penambahan pelarut secara terus menerus akan menyebabkan tiap-tiap komponen bergerak menurun dan menghasilkan kesetimbangan baru pada bagian atas kolom antara bahan penyerap, komponen campuran dan eluen. Keseimbangan ini dikatakan tetap apabila komponen yang satu dengan yang lainnya bergerak ke bagian bawah kolom dengan waktu atau kecepatan yang berbeda-beda sehingga terjadi pemisahan (Yazid, 2005). Pemilihan metode kromatografi kolom ini, dikarenakan metode ini memiliki beberapa keuntungan yaitu ketajaman pemisahan yang lebih besar dan kepekaan yang lebih tinggi.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan bagian daun dari tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.), yang mana daun pada tanaman sebelumnya dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk kering. Proses selanjutnya dilakukan standarisasi untuk serbuk kering dan dilanjutkan dengan proses perkolasi agar didapatkan ekstrak dengan menggunakan etanol sebagai pelarut. Penggunaan proses perkolasi sendiri dikarenakan pada penelitian sebelumnya telah menggunakan metode ini. Proses perkolasi merupakan salah satu proses dari metode ekstraksi cara dingin yang efektif dalam penarikan semua senyawa yang tidak tahan pemanasan. Ekstrak yang

diperoleh dilakukan uji standarisasi untuk mengetahui kelayakan ekstrak pada saat akan digunakan. Ekstrak terstandar kemudian difraksinasi dengan metode kolom kromatografi. Pada penelitian ini, fraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom difokuskan pada pemilihan senyawa flavonoid. Fraksi-fraksi senyawa flavonoid hasil pemisahan, selanjutnya akan diuji daya inhibisinya terhadap aktivitas enzim xantin oksidase yang dilakukan dengan metode pengujian secara *in vitro* dan diamati menggunakan alat spektrofotometer (*Multiscan Go, Thermo Scientific, USA*) pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 290 nm, suhu 25°C dan pH 7,5.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Berapakah nilai  $IC_{50}$  xantin oksidase fraksi terpilih dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang dapat menginhibisi enzim xantin oksidase?
2. Apakah jenis golongan senyawa flavonoid yang terkandung di dalam fraksi terpilih?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menentukan nilai  $IC_{50}$  xantin oksidase fraksi terpilih dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang dapat menginhibisi enzim xantin oksidase.
2. Mengetahui jenis golongan senyawa flavonoid yang terkandung di dalam fraksi terpilih.

#### **1.4. Hipotesis Penelitian**

1. Nilai  $IC_{50}$  xantin oksidase fraksi terpilih dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) memiliki nilai yang lebih kecil dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dan sebanding dengan Allopurinol yang digunakan sebagai pembanding.
2. Jenis golongan senyawa flavon yang berpotensi sebagai inhibitor xantin oksidase.

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui lebih luas mengenai aktivitas senyawa flavonoid yang terkandung dalam fraksi dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dalam menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam pembuatan obat berbahan baku tumbuhan yang menggunakan tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dalam pengobatan berbagai macam penyakit.